

UNIVERSITE DE GENEVE
Section de médecine dentaire
Division de Physiopathologie buccale
et parodontie

FACULTE DE MEDECINE
Professeur G. CIMASONI

**AUGMENTATION
DE LA CONCENTRATION D'ENDOTOXINE
DANS LES PRODUITS DE RINCAGE
DE LA REGION PARODONTALE MARGINALE
AU COURS
DE LA GINGIVITE EXPERIMENTALE CHEZ L'HOMME**

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine dentaire

par

Jean MATTHYS

de

LINDEN (Berne)

Thèse No 349

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545903_0051

UNIVERSITE DE GENEVE
Section de médecine dentaire
Division de Physiopathologie buccale
et parodontie

FACULTE DE MEDECINE
Professeur G. CIMASONI

**AUGMENTATION
DE LA CONCENTRATION D'ENDOTOXINE
DANS LES PRODUITS DE RINCAGE
DE LA REGION PARODONTALE MARGINALE
AU COURS
DE LA GINGIVITE EXPERIMENTALE CHEZ L'HOMME**

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine dentaire

par

Jean MATTHYS

de

LINDEN (Berne)

Thèse No 349

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1979

La Faculté de médecine, sur le préavis de monsieur le professeur G. Cimasoni, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 10 janvier 1979

Le doyen :
André Cruchaud

Thèse No 349



Nous prions le professeur G. Cimasoni de trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'intérêt et l'enthousiasme qu'il a manifestés pendant l'élaboration de notre travail.

Nous adressons nos vifs remerciements :

- aux étudiants qui se sont patiemment prêtés aux expériences;
- à Mlle E. Andersen et Mme I. Condacci qui ont effectué avec beaucoup de soin les analyses biochimiques;
- à Mme M. Rénier qui a dactylographié le texte;
- à M. F. Blanc pour son aide dans la construction de l'appareillage;
- à M. le Docteur A. Tzamouranis pour son précieux dévouement;
- à la firme japonaise Teikoku Hormone Kaisha (Tokyo) qui nous a si gentiment expédié le *lymulus* depuis le Japon.

A MES PARENTS

A MARIE-CLAIRE

1. INTRODUCTION

De nombreux travaux ont montré que la plaque bactérienne est le facteur étiologique le plus important dans les parodontolyses inflammatoires. La plaque bactérienne apparaît dans des conditions d'hygiène insuffisante et s'accumule sur des dents parfaitement propres en 24 à 48 heures (1). On y trouve des organismes essentiellement Gram positifs. A partir du troisième jour d'absence complète de brossage, on remarque dans les couches profondes de la plaque une augmentation en nombre des coques Gram négatifs, des vibrilles, des vibrions et des spirochètes (2,3,4). Les signes cliniques inflammatoires de la maladie parodontale deviennent à ce moment manifestes.

Un des composants des micro-organismes Gram négatifs est l'endotoxine, un complexe lipo-muco-polysaccharidique qui se trouve dans la paroi cellulaire et qui est relâché dans le milieu extérieur lors de la lyse de la bactérie (5). Il est généralement admis que les bactéries de la plaque ne peuvent pas traverser la barrière épithéliale du sillon gingivo-dentaire (6). Les bactéries lysées, par contre, vont pouvoir agir sur les milieux avoisinants grâce, entre autres, à la libération d'endotoxine, car cette dernière peut traverser la barrière épithéliale. Ce phénomène a été étudié par Alfano (7) qui a essayé de faire passer des molécules d'endotoxine marquée au tritium à travers des pièces de tissu comprenant épithélium et tissu conjonctif sous-jacent. L'endotoxine a été posée initialement, soit du côté de la surface épithéliale, soit du côté du tissu conjonctif. Les pièces ont ensuite été coupées et dans les deux cas, il a été constaté, au moyen de l'autoradiographie, que les molécules d'endotoxine pouvaient traverser les couches épithéliales ou conjonctives, mais montraient une nette tendance à se concentrer le long de la membrane basale. Un autre groupe de chercheurs a appliqué chez quatre chiens de l'endotoxine tritiée, sur un épithélium crévulaire intact. Ces auteurs ont remarqué, grâce à l'autoradiographie, que six heures après son application, l'endotoxine avait passé à travers l'épithélium crévulaire et tendait à se concentrer au niveau de la membrane basale. Ils ont d'autre part constaté que la densité des grains était supérieure dans la partie coronaire de l'épithélium crévulaire et ont noté également la présence d'endotoxine marquée dans les vaisseaux sanguins et dans le tissu conjonctif (8). Fulton et Montgomery (9) ont appliqué de l'endotoxine provenant de *L. Buccalis* sur la gencive intacte du chien. Ils ont constaté que cette application causait un afflux de cellules inflammatoires dans l'épithélium crévulaire, un aggrégat de leucocytes dans le tissu conjonctif et un endommagement des vaisseaux sanguins. Au niveau de l'épithélium, ces auteurs ont trouvé une diminution du nombre de desmosomes et une augmentation du volume des espaces intercellulaires. Ils ont également remarqué de nombreuses cellules épithéliales contenant des mitochondries gonflées et des crêtes tordues. Ces changements épithéliaux et vasculaires avaient entraîné une augmentation du

fluide gingival.

Barbanell, Newman et Slutsky (10) ont mis en contact de l'endotoxine d'organismes Gram négatifs provenant de poches parodontales humaines avec des fibroblastes. Ils ont constaté un détachement cellulaire et plusieurs altérations morphologiques comprenant entre autres un élargissement des noyaux. Grâce à la chambre de Boyden, la chémotaxie des cellules polymorphonucléaires (PMN) peut être déterminée quantitativement in vitro : employant cette méthode, Snyderman (11) a démontré que ni l'endotoxine seule ni le sérum seul ne pouvaient activer la chémotaxie des PMN. Cependant, lorsque l'endotoxine et le sérum ont été incubés ensemble, une migration des PMN a été remarquée : un système de complément intact était donc requis pour engendrer une activité chémotaxique. Snyderman a ainsi pu confirmer que l'endotoxine scindait le complément en C5 et que cette partie seule activait la chémotaxie des PMN.

Robinson et Shapiro (12) ont remarqué "in vitro" que l'endotoxine d'E.Coli ainsi que des échantillons de plaque dentaire traitée à chaud ont un effet marqué sur les cellules osseuses. Ils ont observé, entre autres, une diminution du degré de consommation d'oxygène des cellules mises en présence d'endotoxine, qui était proportionnelle à la concentration du toxique.

Aléo (13) a montré la présence d'endotoxine au niveau du ciment de dents parodontosiques. Il a introduit l'endotoxine extraite de ce ciment dans une culture de fibroblastes et a remarqué qu'à faible concentration déjà, il y avait une diminution de la prolifération cellulaire. Par rapport à l'action de l'endotoxine provenant d'E. Coli sur la culture de fibroblastes, l'endotoxine du ciment semble être plus toxique à concentration égale. Il faut cependant noter que le degré d'activité biologique de ces deux endotoxines n'est pas le même car le matériel provenant du ciment contient encore d'autres substances thermo-résistantes. Ce même auteur (14) a continué ses recherches sur des longueurs de temps plus étendues : il a mis en contact de l'endotoxine d'E.Coli avec une culture de fibroblastes pendant 12 semaines. A chaque intervalle hebdomadaire, il a compté le nombre de fibroblastes présents. Une partie de ces cellules ont été ensuite remises en présence d'endotoxine, tandis qu'une autre partie a été introduite dans le milieu de contrôle sans endotoxine. Cet auteur a constaté, à la fin des 12 semaines, que les cellules mises en contact avec le toxique avaient augmenté en nombre jusqu'à la 4e-5e semaine, pour atteindre un plateau comprenant le 75 % des cellules et qui se prolongeait jusqu'à la fin de l'expérience. Cette viabilité relativement élevée en présence de lipopolysaccharides suggère que certaines cellules résistantes sont encore capables de proliférer. La viabilité des cellules remises dans un milieu sans endotoxine atteignait, elle, 90 à 95 %. Ces données indiquent que la présence continuelle d'endotoxine sur les surfaces du ciment peut avoir un effet inhibiteur sur la prolifération cellulaire du conjonctif parodontal. Elles indiquent ainsi que le processus est

réversible lorsque le toxique est éliminé.

La relation entre la quantité d'endotoxine existant dans le fluide gingival et le degré d'inflammation de la gencive a été étudié par Simon, Goldman, Ruben et Baker (3,15,16,17). Ces derniers ont collecté, au moyen de tubes capillaires en téflon, du fluide gingival chez des patients présentant une parodontite non traitée. Après homogénéisation et centrifugation, ils ont injecté le surnageant dans l'abdomen de lapin. La réaction inflammatoire ainsi provoquée a été mesurée quantitativement après 24 et 48 heures. Une relation statistiquement significative était présente entre la quantité d'endotoxine soluble dans le fluide gingival et le degré d'inflammation clinique. Ces travaux ont d'autre part permis d'affirmer l'existence d'une relation entre le taux d'endotoxine dans le sillon gingivo-dentaire et les lésions parodontales vérifiées histologiquement.

Avec une étude transversale, Shapiro (18) a démontré par la méthode du "limulus lysate test" que, lorsque le degré d'inflammation de la gencive augmente (G.I. 0 à 3), le taux d'endotoxine augmente aussi bien dans le fluide gingival que dans la plaque, la salive et le tissu gingival.

Tous les travaux effectués à ce jour traitant, soit des effets, soit du mécanisme d'action de l'endotoxine, montrent à quel point le sujet est d'importance. C'est pourquoi le but que nous nous sommes fixés dans le présent travail a été l'étude d'une corrélation possible entre la quantité d'endotoxine dans le produit de lavage de la région marginale et le degré clinique d'inflammation au cours d'une gingivite expérimentale chez l'homme. Bien que Simon (15,16,17) et Shapiro (18) aient déjà en partie traité le sujet, il nous est apparu important de vérifier ces résultats par une approche différente du problème : la collection, chez l'homme, du matériel au niveau du sillon gingivo-dentaire et la détermination de la concentration d'endotoxine dans une étude non plus transversale, mais longitudinale.

2. MATERIEL ET METHODES

Cette étude longitudinale a pu être réalisée grâce à la participation de cinq volontaires âgés de 22 à 24 ans, choisis en fonction de leur bonne hygiène bucco-dentaire et qui présentaient tous des arcades complètes. Elle s'est déroulée pendant 44 jours, y compris une phase pré-expérimentale du jour -9 au jour 0, au début de laquelle les dents des sujets ont été soigneusement nettoyées et polies. Au cours de cette période, les volontaires ont maintenu une hygiène bucco-dentaire parfaite et des examens quotidiens ont été faits sur chaque sujet, ce qui nous a permis d'établir des valeurs de base, tant cliniques que biochimiques.

La phase expérimentale a commencé au jour 0 par l'arrêt du brossage à l'arcade supérieure et s'est terminée au 21e jour. Pendant cette période, des examens ont été effectués au jour +7, +14, +18 et +21. A partir du 21e jour, les sujets ont repris leur brossage et ils ont complété leurs mesures d'hygiène bucco-dentaire grâce au fil et aux stimulateurs interdentaires. Les examens ont encore continué pendant 13 jours, jusqu'au retour à la normale des valeurs cliniques. Les indices cliniques d'inflammation gingivale et de plaque, de même que le débit du fluide, ont été mesurés à chaque examen. Enfin, des lavages de la région parodontale marginale ont été également pratiqués au même moment. Des photos en couleur de la région vestibulaire antéro-supérieure ont été prises aux jours 0, +7, +14, +18, +21, +34.

Eléments cliniques de l'étude

Indice d'inflammation gingivale

Le degré d'inflammation de la gencive a été mesuré selon la méthode de Løe et Silness (19, 20, 21), dont nous rappelons ici la signification : degré 0 = gencive normale; degré 1 = légère inflammation : léger changement de couleur, léger oedème, pas de saignement au sondage; degré 2 = inflammation moyenne : rougeur, oedème, saignement au sondage; degré 3 = inflammation marquée : rougeur et oedème important, tendance au saignement spontané.

Six mesures (deux mésiales, deux distales, une vestibulaire et une palatine) ont été effectuées pour chaque dent de l'arcade supérieure. Le score total divisé par le nombre de mesures a donné l'indice gingival du sujet.

Indice de plaque

L'accumulation de dépôts de plaque au niveau des collets a été appréciée selon la méthode de Løe et Silness (19, 20, 21) : Index 0 = pas de plaque; Index 1 = un film de plaque adhère à la gencive marginale et sur la surface de la dent. Index 2 = accumu-

lation modérée qui peut être vue à l'oeil nu. Index 3 = abondance de dépôts mous au niveau de la gencive marginale et sur la surface correspondante de la dent.

Comme pour l'indice G.I., six mesures (deux mésiales, deux distales, une vestibulaire et une palatine) ont été effectuées pour chaque dent. Le total des mesures, divisé par le nombre de surfaces examinées, a donné l'indice de plaque du sujet.

Mesure du débit du fluide gingival

Le débit du fluide gingival a été mesuré selon la technique intracrêviculaire standardisée par Valazza (22), la collection étant réalisée à l'aide de languettes de papier-filtre (Schleicher et Schnell n° 595) de 1,5 mm de largeur, insérées dans le sillon gingivo-dentaire, à une profondeur de 1 mm. Les prélèvements ont été effectués sur trois dents du bloc incisif supérieur (dents N° 11, 21 et 23). Les languettes de papier-filtre ont été insérées sur quatre faces de chaque dent (mésial, vestibulaire, distale et palatine), en évitant toute contamination par la salive. Pour cela, les dents ont été isolées par des cotons puis légèrement séchées au jet d'air. Les languettes étaient contenues dans des micro-éprouvettes de plastique (Beckmann); elles n'étaient sorties que pour le prélèvement et aussitôt refermées hermétiquement pour éviter toute évaporation. Les micro éprouvettes ont été pesées avant et après la collection du fluide. La différence de poids, divisée par le temps de collection, a donné le débit, exprimé en mg/min.

Lavage de la région marginale

Une série d'analyses du taux d'endotoxine ont été faites dans le produit de lavage de la région parodontale marginale du maxillaire supérieur. L'appareil décrit par Oppenheim et modifié pour nos besoins par Sudan (23) a été employé pour l'obtention de ces lavages.

Chez chaque sujet, une empreinte du maxillaire supérieur a été prise en alginate, à l'aide d'un porte-empreinte individuel. Sur un modèle très précis de l'arcade supérieure, coulé en plâtre dur, la zone du sillon gingivo-dentaire a été recouverte de cire. Une gouttière en résine autopolymérisante a été construite sur ce modèle. Elle recouvrait toute la région maxillaire et se terminait par des bords mous s'appliquant parfaitement aux zones de réflexion de la gencive, au fond du vestibule et au niveau de la région post-dam. Le sillon créé le long de la jonction gingivo-dentaire était relié à quatre tubes de polyvinyl. Les lavages ont été effectués en faisant circuler, à l'aide d'une pompe, 6 ml de solution physiologique. La durée de chaque lavage a été de 5 minutes, à la fin desquelles les 6 ml ont été recueillis pour l'analyse de l'endotoxine.

Détermination quantitative de l'endotoxine

L'endotoxine a été analysée par la méthode de Lewin et Bang (24), basée sur l'utilisation d'un lysat d'amébocytes du crabe en fer à cheval ("lymulus polyphemus"), lysat capable de former un gel en présence de lipopolysaccharides. Une série de capsules ont été fournies par le fabricant (25); elles contenaient un lysat lyophilisé titré avec de l'endotoxine d'*Escherichia Coli* 0111-B+ : dilué avec 0,1 ml d'eau distillée, le lysat de chaque capsule peut former un gel en présence d'au minimum 10^{-3} /ug/ml d'endotoxine ("end point"). Cette dilution optimale a été déterminée au cours d'essais préliminaires afin d'être applicable au champ d'analyses. Le produit de lavage a été tout d'abord traité à 100°C pendant 30 secondes, dans le but de dénaturer tout matériel protéinique interférant, les endotoxines étant thermostables. Un volume de 0,1 ml de ce produit dénaturé a été ensuite progressivement dilué dans 10 tubes avec une solution physiologique stérile, pour obtenir des facteurs de dilution allant de 200 à 10.400 fois. Pour chacune des dix solutions de produit de lavage dénaturé, 0,1 ml ont été transvasés dans les 10 capsules contenant la solution de lysat de lymulus. On a observé la formation d'un gel en appuyant les capsules cylindriques contre un plan incliné (Fig. 1), et vérifié que le ménisque restait perpendiculaire aux parois du tube. La capsule "end point" a pu être ainsi déterminée et la concentration originale d'endotoxine du produit de lavage a pu être calculée, en tenant compte du facteur de dilution

LYMULUS LYSATE TEST

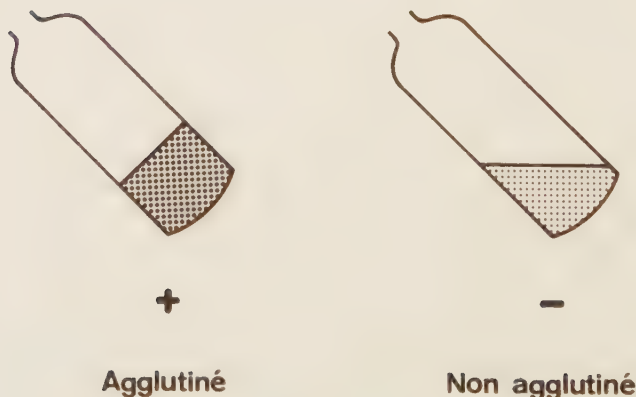


Figure 1

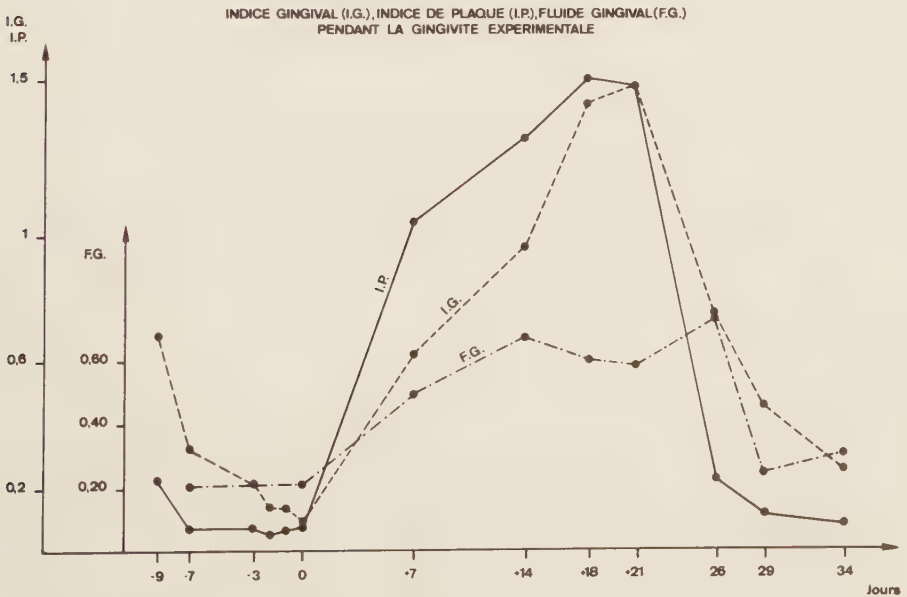
3. RESULTATS

Paramètres cliniques

L'indice de plaque (I.P.), l'indice d'inflammation gingivale (G.I.) et le débit du fluide gingival (F.G.) sont groupés sur le même graphique (Graph. 1). Les valeurs moyennes de chaque paramètre se rapportant aux cinq sujets figurent en ordonnée; l'axe des abscisses indique les jours.

L'indice de plaque a montré une augmentation très nette et rapide après le jour 0, pour atteindre un maximum aux jours +18 et +21, date de la fin de la période de gingivite expérimentale.

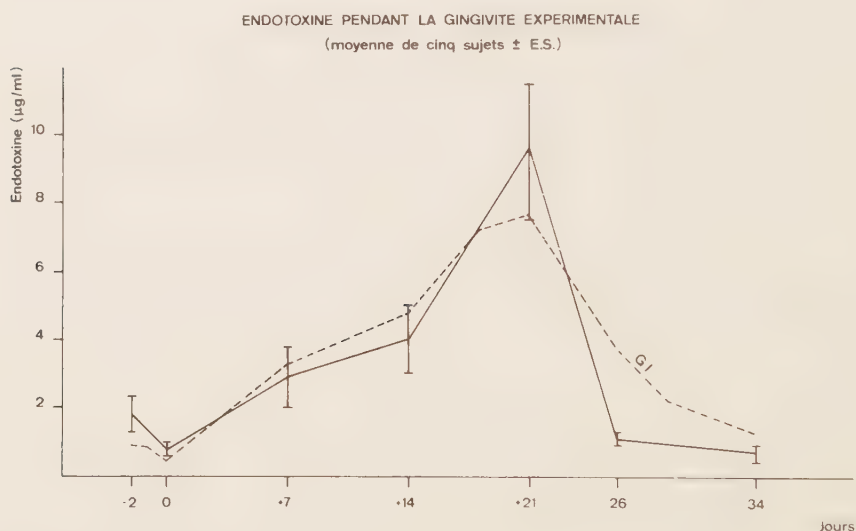
Comme le montre également le graphique no 1, l'indice d'inflammation gingivale demeure stable pendant la période pré-expérimentale (jours -9 à 0). Déjà au jour +7, la valeur moyenne de l'indice a augmenté significativement pour atteindre un maximum au jour +21, date de la fin de non-brossage. Quant au fluide gingival, on a remarqué dès le jour +7, une nette augmentation de son débit.



Graphique 1

Concentration d'endotoxine

Les résultats des mesures de la concentration d'endotoxine dans les produits de lavage de la région marginale supérieure sont représentés dans le graphique n° 2 qui reproduit, à titre de mémoire également, la courbe de variation du G.I. En ordonnée, est représentée la concentration d'endotoxine dans les produits de lavage, exprimée en $\mu\text{g/ml}$ tandis qu'en abscisse figurent les jours de l'expérience. Chaque point de la courbe concernant l'endotoxine représente la valeur moyenne des concentrations mesurées chez les 5 sujets avec, sous forme de barre verticale, la valeur de l'erreur standard de la moyenne.



Graphique 2

Comme l'indique le graphique n°2, la concentration moyenne d'endotoxine a subi une légère diminution pendant la phase pré-expérimentale (jour - 2 à 0), période qui représente la mise en train d'une hygiène bucco-dentaire rigoureuse de la part des cinq sujets.

A partir du jour 0, la concentration d'endotoxine a augmenté régulièrement pour atteindre un maximum au 21e jour, date de la fin de l'expérience. Nous retrouvons ensuite, au 26e jour, de même qu'au 34e, les mêmes concentrations d'endotoxine qu'au début de la période de gingivite expérimentale.

4. DISCUSSION

Les résultats cliniques que nous avons enregistrés pendant cette étude confirment les résultats de Løe et Jensen (21) ainsi que ceux de Theilade, Wright et Jensen (1). En effet, l'indice de plaque a montré une augmentation rapide dès les premiers jours après l'arrêt du brossage. L'indice gingival a lui aussi augmenté en parallèle à l'indice de plaque, décalé par rapport à ce dernier, pour atteindre un maximum au 21^e jour. Ces paramètres sont revenus à leur valeur initiale quelques jours après la reprise du brossage, avec cependant, à nouveau, un décalage pour l'indice gingival par rapport à l'indice de plaque. Ces résultats confirment donc qu'une relation de cause à effet doit exister entre l'accumulation de plaque et le développement d'une phase aiguë de gingivite chez l'homme.

La partie biochimique et originale de notre étude a été la détermination de la quantité d'endotoxine dans les produits de lavage de la région marginale. Pour ce faire, nous avons choisi la méthode du "Lysate limulus test" qui paraît plus fiable et précise que celle utilisée par Simon et ses collaborateurs dans leur étude transversale sur la concentration de lipopolysaccharides dans le fluide gingival. Rappelons que ces auteurs ont apprécié la quantité d'endotoxine en mesurant la réaction inflammatoire obtenue dans l'abdomen du lapin, après injection d'une quantité donnée de fluide.

Les résultats de l'étude présente s'inscrivent précisément dans la ligne de ceux obtenus par Simon et coll (3,15,16,17): ces auteurs ont, en effet, établi l'existence d'une corrélation entre la concentration d'endotoxine dans le fluide gingival et la gravité de la lésion inflammatoire gingivale, mesurée, soit par des paramètres cliniques, soit sur des coupes histologiques. Un an plus tard, Shapiro et ses collaborateurs ont même trouvé des corrélations positives entre les concentrations d'endotoxine dans le fluide, au niveau de la plaque, dans la salive et au niveau du tissu gingival chez les mêmes patients (18).

On sait que les lipopolysaccharides, libérés par les bactéries Gram négatives, sont hautement toxiques pour les tissus gingivaux : ils ont en fait été considérés comme un facteur pathogénique possible, dans la formation de la poche. Pendant une période de gingivite expérimentale, un passage graduel de la flore buccale Gram positive vers des formes Gram négatives a été démontré, parallèlement à l'apparition des premiers signes d'inflammation (1,19,20,21). Nos résultats montrent que ce passage est accompagné d'une augmentation significative de la concentration d'endotoxine au niveau du sillon gingivodentaire. Ces résultats confirment donc que les lipopolysaccharides pourraient effectivement jouer un rôle important dans la pathogénèse de la lésion inflammatoire gingivale.

5. CONCLUSIONS

Chez un groupe de cinq volontaires, la suppression des mesures d'hygiène a permis de confirmer que l'accumulation de plaque est suivie de l'apparition d'une gingivite aiguë.

Grâce à une méthode semi-quantitative, on a pu démontrer que, parallèlement à l'apparition des signes cliniques de gingivite (et au fur et à mesure qu'une flore Gram négative apparaît dans le sillon), la concentration d'endotoxine augmente de façon significative dans les produits de lavage de la région parodontale marginale.

BIBLIOGRAPHIE

1. THEILADE E., WRIGHT W.H., JENSEN B., LÖE H. : Experimental gingivitis in man. II. a longitudinal clinical and bacteriological investigation. J. Periodont. Res. 1 : 1-13, 1966.
2. SOCRANSKY S. : Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J. Dent. Res. (Suppl.) 49 : 203- 222, 1970.
3. SIMON B., GOLDMAN H.M., RUBEN M.P., BAKER E. : The role of endotoxin in periodontal disease. II. Correlation of the quantity of endotoxin in human gingival exudate with the histologic degree of inflammation. J. Periodont. 42 : 210-216, 1971.
4. GLICKMAN I. : Clinical periodontology. Saunders Co. Philadelphia 1972.
5. AZELE FERRON : Bactériologie. 4e édition, 1971.
6. BAHN A.N. : Microbial potential in the etiology of periodontal disease. J. Periodont. 41 : 603-610 , 1970.
7. ALFANO M. , DRUMMOND J.F., MILLER S.A. : Localisation of rate-limiting barrier to penetration of endotoxin through nonkeratinized oral mucosa in vitro. J. Dent. Res. 54 : 1143-1148, 1975
8. SCHWARTZ J., STINSON F.L., PARKER R.B. : The passage of tritiated bacterial endotoxin across intact crevicular epithelium. J. Periodont. 43 : 270-276, 1972.
9. FULTON J., MONTGOMERY E. : Ultrastructural changes in gingiva following topical application of endotoxin. I.A.D.R. Abstracts No 207, 1975.
10. BARBANELL R.L., NEWMAN M.G., SLUTSKY A. : Effects of endotoxin from periodontosis Microorganisms on human gingival cells. I.A.D.R. Abstracts No 204, 1975.
11. SNYDERMAN R. : Humoral and bacterial mediators of inflammation. Compar. Imm. Oral Cavity. Bethesda Maryland, 1973.
12. ROBINSON P., SHAPIRO I. : The effect of endotoxin and human dental plaque on the respiratory rate of bone cells. J. Periodont. Res. 10 : 305- 308 , 1975.

13. ALEO J., DE RENZIS F.A., FARBER P.A., VARBONCOEUR A.P. : The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. J. Periodont. 45 : 672-675 , 1974.
14. ALEO J., DE RENZIS F.A. : Proliferation of cells in vitro after long term exposure to endotoxin. J. Dent. Res. 55 (6) : 1139-1140, 1976.
15. SIMON B., GOLDMAN H.M., RUBEN M.P., BAKER E. : The role of endotoxin in periodontal disease. I. A reproducible quantitative method for determining the amount of endotoxin in human gingival exudate. J. Periodont. 40 : 695- 701, 1969.
16. SIMON B., GOLDMAN H.M., RUBEN M.P., BAKER E. : The role of endotoxin in periodontal disease. III. Correlation of the amount of endotoxin in human gingival exudate with the histologic degree of inflammation. J. Periodont. 42 : 210- 216, 1971.
17. SIMON B., GOLDMAN H.M., RUBEN M.P., BAKER E. : The role of endotoxin in periodontal disease. IV. Bacteriologic analyses of human gingival exudate as related to the quantity of endotoxin and clinical degree of inflammation. J. Periodont. 43 : 468- 475, 1973.
18. SHAPIRO L., LODATO F.M., COURANT P.R., STALLARD R.E. : Endotoxin determinations in gingival inflammation. J. Periodont. 43 : 591- 596, 1972.
19. LÖE H. : The gingival index, the plaque index and retention index systems. J. Periodont. 38 : 610- 616 , 1967.
20. LÖE H., SILNESS J. : Periodontal disease in pregnancy : Prevalence and severity. Acta odont. Scand. 25 : 533-537, 1963.
21. LÖE H., THEILADE E., JENSEN B. : Experimental gingivitis in man. J. Periodont. 36 : 177-187, 1965.
22. VALAZZA A. : Phosphatase acide, bêta-glucuronidase et cathepsine D dans les microquantités de fluide gingival. Médecine et Hygiène No 289, 1972.
23. SUDAN J.M. : Le produit de rinçage de la région marginale, étude biochimique. Médecine et Hygiène No 316, 1974.
24. LEVIN J., BANG F. : Clottable protein in Limulus : its localisation and kinetics of its coagulation by endotoxin. Tromb. Diath. Haemorr. 19 : 186-194, 1968.
25. TEIKOKU HORMONE KAISHA, Tokyo.

